INTENDENZA III[a] ARMATA

LABORATORIO DI RICERCHE SULLA MORVA

(Direttori: T. Colonnello Dott. E. BERTETTI e Maggiore Prof. G. FINZI)

DIAGNOSI E TERAPIA DELLA MORVA

Conferenza tenuta a Cervignano il 12 marzo 1917 dal Maggiore Veterinario Prof. GUIDO FINZI nell'Aula delle Conferenze della Direzione di Sanità d'Armata

(Pubblicazione per cura della Direzione di Sanità d'Armata)

TORINO
TIPOGRAFIA ENRICO SCHIOPPO
VICOLO BENEVELLO IN VIA ZECCA
1917

INTENDENZA III^a ARMATA

LABORATORIO DI RICERCHE SULLA MORVA

(Direttori: T. Colonnello Dott. E. BERTETTI e Maggiore Prof. G. FINZI)

DIAGNOSI E TERAPIA DELLA MORVA

Conferenza tenuta a Cervignano il 12 marzo 1917 dal Maggiore Veterinario Prof. GUIDO FINZI nell'Aula delle Conferenze della Direzione di Sanità d'Armata

(Pubblicazione per cura della Direzione di Sanità d'Armata)

TORINO
TIPOGRAFIA ENRICO SCHIOPPO
VICOLO BENEVELLO IN VIA ZECCA
1917

DIAGNOSI E TERAPIA DELLA MORVA

CONFERENZA

tenuta a Cervignano dal Maggiore Veterinario Prof. G. FINZI nell'Aula delle Conferenze della Direzione di Sanità d'Armata

Le ricerche intese a risolvere il problema della terapia della morva se sono importanti dal punto di vista della patologia zooiatrica, sono nel contempo di grande interesse per la pubblica igiene dato il pericolo che gli animali colpiti rappresentano per l'uomo; basti a persuadersene ricordare che già nel 1903 S. E. il Ministro dell'Interno, S. E. il Ministro della Guerra e l'on. Direttore Generale della Sanità Pubblica affidavano all'Illustre prof. Bonome, dell'Ateneo di Padova, l'incarico di speciali ricerche sulla « Patogenesi e trasmissibilità della morva ».

E' merito del Tenente Colonnello Dr. Bertetti, Direttore di Veterinaria della III[a] Armata, d'aver intuito come fosse possibile di usufruire del materiale rappresentato da quadrupedi con morva chiusa, che dovevano abbattersi, per esperimenti da condursi specialmente nel campo della terapia e di averne proposta l'attuazione.

Colla scelta della località di Brian per condurre le esperienze stesse, si veniva in seguito a raggiungere il duplice scopo: di tenere isolati gli animali da esperimento e di impiegarli per il tiro dei burchi, sostituendo altrettanti quadrupedi sani, attenuando così considerevolmente la spesa per il mantenimento di essi.

E' merito grandissimo del sig. Tenente Generale Lombardi, allora Intendente d'Armata, di aver giustamente apprezzato l'alto interesse del problema prospettatogli e di aver dato tutto il suo appoggio all'iniziativa facendo sì che venisse istituito il « Laboratorio di ricerche sulla morva ».

La Direzione veniva affidata dapprima al Maggiore Prof. Lanfranchi che subito proponeva al Tenente Colonnello Dr. Bertetti, Direttore di Veterinaria della III^a Armata, di chiamarmi a collaborare come condirettore del Laboratorio. Col Direttore di veterinaria e col Prof. Lanfranchi si concordarono da principio i punti principali da studiarsi e che dovevano costituire la base delle esperienze da svolgersi. Peccato che ragioni di salute abbiano indotto il Maggiore Prof. Lanfranchi a ritirarsi privandoci del suo illuminato parere.

Ho l'onore di riferire anche a nome del signor Tenente Colonnello Dott. Bertetti qui presente.

***

La diagnosi della morva occulta, polmonare non la si fa che raramente, anzi, solo eccezionalmente, sulla sola base dei segni clinici, tanto che da tempo, a scopo diagnostico, e conseguentemente a scopo profilattico, si sfrutta quella ipersensibilità propria dei soggetti morvosi, di fronte ai derivati e ai prodotti solubili del bacillo della morva.

La sostanza dotata di proprietà diagnostiche così caratteristiche è oggi conosciuta sotto il nome di malleina che altro non è che un estratto sterile di culture di bacilli della

morva. La natura intima di questa sostanza è ancora poco nota, per quanto la maggioranza dei ricercatori abbia messo in evidenza nella malleina delle tossino-albumine e delle tossino-proteine.

La malleina si distingue dalle comuni tossine per il fatto che essa è assolutamente innocua per gli animali non morvosi, anche se iniettata in quantità dieci volte superiore a quella capace di darci reazioni speciali in animali morvosi della stessa specie.

Infatti, cavalli sani o affetti da qualunque altra forma infettiva non reagiscono alla iniezione sottocutanea di 10-15-20-25 centgr. di malleina come reagiscono invece gli animali morvosi.

Le reazioni positive alla malleina sono caratterizzate da una *reazione locale* (tumefazione voluminosa, edematosa, calda, dolente) da una *reazione organica generale* (stato di abbattimento, di prostrazione, inappetenza, respirazione accelerata e tremori muscolari) e frequentemente da una *reazione termica* più o meno manifesta, più o meno significativa.

Questo insieme di fenomeni ben caratteristici, che generalmente cominciano a rendersi palesi dopo 10-14 ore, assumono una evidenza ed un valore diagnostico indiscutibile, se l'iniezione della malleina viene fatta seguendo le indicazioni ed il metodo intrapalpebrale del Prof. Lanfranchi, metodo oggi divenuto classico e ufficiale negli eserciti italiano, francese, inglese e greco.

Col procedimento intrapalpebrale, l'iniezione di malleina non viene più fatta alla regione del collo, ma bensì nello spessore della palpebra, terreno ricco di tessuto cellulare molto più disposto alla infiltrazione edematosa, sierosa, dove persistono maggiormente fatti reattivi locali.

E l'intrapalpebro-reazione rappresenta attualmente il metodo più sicuro e più pratico per l'accertamento diagnostico della morva nel cavallo, non solo perchè rende più evidenti e più persistenti le manifestazioni reattive, ma per-

chè nella reazione locale sono nettamente e costantemente evidenti la tumefazione flogistica della congiuntiva e lo scolo purulento, che osservasi generalmente nella oftalmoreazione in seguito ad instillazione di malleina nel sacco oculo-congiuntivale. Abbiamo quindi nel procedimento di Lanfranchi, una associazione delle manifestazioni reattive delle due prove più probative nella diagnosi della morva (sottocutireazione e oftalmoreazione).

Allo scopo di renderci esatto conto dei criteri da noi adottati per ritenere guarito di morva un cavallo, è indispensabile a questo punto intrattenerci su quello che, secondo noi, è meccanismo patogenetico delle reazioni malleiniche.

Secondo *Hutyra* e *Marek*, come nei soggetti tubercolotici, anche in quelli infetti di morva si stabilisce nell'organismo una condizione allergica che si rende evidente di fronte alla tossina del bacillo della morva. L'organismo sostiene infatti una lotta attiva contro il *bacillus mallei* e contro i suoi prodotti solubili, per cui, come effetto della reazione destata dall'antigene si formano dei corpi di reazione, degli anticorpi più o meno abbondanti secondo la capacità reattiva dell'organismo, i quali mantengono l'organismo stesso in istato di permanente difesa.

Ne consegue che, allorquando in un animale morvoso vengono introdotti degli estratti di cultura di bacilli di morva, l'organismo grazie ai suoi anticorpi specifici, reagisce contro questo antigene con segni palesi di lotta e con quelle reazioni, locali, generali e termiche pocanzi considerate.

Schütz, nel 1912, dice senz'altro per riassumere il suo concetto, che la malleina, quale prodotto dei bacilli della morva contenuti nell'organismo sottintende la formazione e la presenza negli umori di un'antimalleina, la quale, per una affinità specifica si legherebbe alla malleina introdotta a scopo diagnostico. Il legame poi sottintenderebbe il prodursi di una terza sostanza dotata di proprietà pirogena.

La maggioranza degli autori ammette che nell'organismo dei soggetti morvosi, in conseguenza dell'infezione esistono degli anticorpi litici specifici a tipo di ambocettori (sensibilisine, immunolisine ecc.) i quali, dopo essersi fissati sulla malleina iniettata la modificano, la disintegrano e scompongono la sua molecola, liberando così il veleno bruto-malleinico che produce la reazione caratteristica bene conosciuta.

Secondo noi, invece, la reazione malleinica non deve essere esclusivamente considerata in rapporto ad una condizione allergica dell'organismo e come un fenomeno di anafilassi.

Anzitutto la sintomatologia della reazione malleinica noi la vediamo troppo differente da quella che abitualmente vediamo negli animali sotto il choc anafilattico. Di più, se nel siero degli animali in condizione allergica o in stato di anafilassi esiste un anticorpo o sensibilisina capace di rendere passivamente sensibili altri animali di fronte ad iniezioni dell'antigene corrispondente, le sensibilisine antimorvose non sono per nulla affatto atte a rendere passivamente sensibili altri animali di fronte all'azione della malleina.

Infatti, fino ad oggi, tutte le prove tentate dai differenti ricercatori, in questo senso, fallirono, e ciò ne convinse che l'unico mezzo per rendere gli animali sensibili alla malleina è quello di infettarli di morva, assicurandoci così che *solo l'infezione morvosa sensibilizza alla malleina.*

Infatti, se la reazione alla malleina fosse una reazione di natura anafilattica, perchè non si riescono a sensibilizzare le cavie sane di fronte alla malleina con siero proveniente da soggetti morvosi? Perchè la malleina non si è mai dimostrata atta a comportarsi come un sensibilisogene? perchè essa non è dotata di un potere preparante?

Infine, secondo noi, devono essere prese in seria considerazione di fronte a quello che è meccanismo d'azione della malleina, i risultati forniti dalla *malleina sensibilizzata.*

Chiamiamo malleina sensibilizzata:

1°) Il complesso: malleina bruta mescolata con siero inattivato proveniente da un cavallo morvoso e siero di cavia sana, lasciati in contatto per 24 ore alla temperatura di 36°-37°.

(La malleina bruta fu mescolata a siero — inattivato a 56° per 30' — di cavallo morvoso salassato il giorno avanti e a siero fresco di cavia normale nelle proporzioni seguenti: 0,25 centg. di malleina bruta più 2 cc. di siero di cavallo più 15 goccie di siero di cavia).

2°) Il complesso: malleina bruta (25 centg.) più 2 cc. siero fresco di cavallo morvoso salassato il giorno avanti, lasciati in contatto per 24 ore alla temperatura di 36°-37°. (Questi due complessi, questi due miscugli si equivalgono giacchè si comportarono sui cavalli morvosi e sui cavalli sani in modo perfettamente identico).

Nei cavalli morvosi le manifestazioni reattive seguirono quasi immediatamente l'iniezione di malleina sensibilizzata.

Allora come abbiamo potuto ottenere una sostanza energicamente e rapidamente attiva pei soggetti morvosi, dal complesso malleina bruta più siero fresco di cavia, più siero inattivato di cavallo morvoso? Perchè fu così abbreviato il periodo di incubazione di intossicazione malleinica?

Abbiamo più sopra detto che un organismo, colpito dall'infezione morvosa, produce anticorpi specifici e che la malleina, per l'azione di questi anticorpi (sensibilisine, albuminolisine, ecc.) libera un veleno speciale. Per conseguenza, avendo noi già ottenuto *in vitro*, grazie a questi anticorpi, la disintegrazione, la modificazione della molecola albuminoide della malleina e la messa in libertà della tossina speciale, questa avrà senz'altro agito sull'organismo morvoso, dando, in un minimo periodo di incubazione, una reazione malleinica tipica.

Se questa reazione infine fosse stata unicamente una manifestazione anafilattica da ritenersi dovuta alla presenza di anticorpi speciali (sensibilisine di Besredka, albu-

minosiline di Nicolle, precipitine di Friedberger, toxogenine di Richet) o di speciali fermenti difensivi che colla iniezione di malleina sarebbero passati dallo stato zimogeno a quello di fermento attivo (Vaughan e Waeerler), noi, con la malleina sensibilizzata, avremmo dovuto avere una reazione, per quanto moderata, anche nei soggetti sani, cosa che invece, come abbiamo detto, non abbiamo ottenuta.

Concludendo dunque anche per queste suesposte considerazioni noi oggi siamo indotti a ritenere che un cavallo morvoso reagisce alla malleina, non solo perchè produce un anticorpo specifico (sensibilisina antimorvosa), ma benanche per una forma di sensibilità tutta particolare propria all'infezione morvosa, propria allo stato morvoso. Secondo noi poi, la malleina deve essere considerata come sostanza contente in sè stessa una speciale tossina, la quale, arrivata nell'organismo sensibilizzato, morvoso, constituisce un veleno sui generis solo per l'animale infettato di morva.

Certo però che noi, negando alla reazione alla malleina il significato di una manifestazione anafilattica, non vogliamo negare che la reazione alla malleina sia la conseguenza di un fenomeno immunitario.

Ed infine in appoggio ancora a queste nostre vedute sul meccanismo patogenetico delle reazioni malleiniche nei soggetti morvosi noi vogliamo invocare anche le constatazioni seguenti.

Per le nostre ricerche noi abbiamo iperimmunizzato diversi cavalli, muli, asini e bovini fino ad avere sieri ricchi in anticorpi antimorvosi. Ora se sulla presenza di questi dovesse essere compreso il meccanismo patogenetico delle reazioni malleiniche noi avremmo dovuto vedere i nostri soggetti siero produttori reagire positivamente alla prova della malleina. Ebbene, questo da noi mai fu verificato, e nei diversi tentativi le reazioni furono sempre assolutamente negative sia che si adoperasse malleina o tubercolina od altre svariate tossine di origine batterica.

E come interpretare allora le affermazioni di Sudmersen quando questi scrive : « Animali bene immunizzati in vista « della preparazione di un siero antimorvoso diedero rea- « zione perfettamente identica a quella che dà un soggetto « morvoso alla malleina sia dal punto di vista della reazione « termica che da quello della reazione locale. Tale reazione « non è unicamente limitata alla malleina giacchè possano « produrla ancora altre tossine quali ad esempio la tuber- « colina, la tossina dello streptococco e del bacillo tifico »?

Noi, senza tema di voler troppo presumere, ci domandiamo se eventualmente Sudmersen nell'iperimmunizzazione dei suoi soggetti non avrà creato il terreno morvoso o se eventualmente i criteri adottati nell'interpretazione delle reazioni alle tossine non sono quelli da noi e dalla maggioranza degli A. A. adottati.

La reazione di agglutinazione, come la deviazione del complemento, sono pure utilmente impiegati nella diagnosi sperimentale della morva.

Comunque, ricerche condotte col massimo rigore di tecnica, dimostrarono che le prove serologiche solo nel 93 % dei casi furono confermati dal reperto necroscopico. In alcuni cavalli morvosi infatti si constatò un valore agglutinante di 1 : 100 (negativo); in frequenti casi la deviazione del complemento fu dubbia o negativa quando la prova di agglutinazione fu positiva (oltre 1 : 1000); ed in taluni casi di morva le due prove sierodiagnostiche fallirono completamente. Queste constatazioni ci permettono affermare che: *la reazione malleinica, specie l'intrapalpebroreazione, è da considerarsi ancora il miglior metodo di diagnosi sperimentale della morva.* A questo punto facciamo comunque osservare che fu anche sulla determinazione del potere agglutinante del siero, che noi accertammo i casi di guarigione nei nostri animali di esperimento, fermo tenendo il concetto da noi precedentemente stabilito sul meccanismo d'azione della malleina.

*
* *

Durante le nostre ricerche sulla terapia della morva ci fu possibile portare nel contempo importante contributo allo studio delle batteriemie nella morva naturale e sperimentale a decorso acuto o cronico ed alla protogenesi dell'infezione morvosa.

I primi tentativi sulla terapia della morva vennero fatti in Italia dal Brusasco. Questi nel 1880 affermò la curabilità di tale malattia mediante l'impiego dell'acido fenico somministrato per via boccale con le bevande e mediante l'acido timico applicato in corrispondenza alle lesioni morvose a carattere ulcerativo. Non si dimentichi però che nel 1880 ancora non era conosciuto l'agente dell'infezione morvosa, (giacchè è solo nel dicembre del 1882 che Bouchard, Capitan e Charrin in Francia, Loeffer e Schutz in Germania isolarono e coltivarono il *bacillus mallei*) e che per conseguenza ancora non si possedeva la malleina per l'accertamento della diagnosi clinica. Con questo, naturalmente, noi vogliamo soltanto osservare che un errore di diagnosi era possibile e scusabilissimo e che le esperienze del Brusasco, già nel 1880 confermate dal Pollovio e dal Saletta e ancor oggi appoggiate e confortate dal parere favorevole di alcuni veterinari, volevano assolutamente essere controllate.

Un gruppo di cavalli con morva polmonare (N. 10) venne da noi sottoposto al trattamento indicato dal Brusasco. La somministrazione dell'acido fenico venne fatta anche per via endovenosa e a dosi massime seguendo le indicazioni recentemente raccomandate dal Poret nel 1915. Noi saremo brevi e diremo senz'altro che, non solo non siamo arrivati a ritenere guarito nemmeno uno dei nostri soggetti in trattamento, ma durante la cura stessa abbiamo assistito, in taluni soggetti, a riacutizzazioni di processo ed alla comparsa di localizzazioni gravi nasali e cutanee. Fatto interessante però, e che noi riteniamo possa aver tratto in errore

taluni che ebbero a tentare il metodo di cura del Brusasco è il seguente. Se noi procediamo alla prova della malleina, anche col metodo rigoroso dell'intrapalpebroreazione, su cavalli morvosi da qualche tempo sottoposti al trattamento con acido fenico, noi vediamo, in taluni di essi, mancare la reazione, mentre questa diviene nettamente positiva se, sospendendo la cura, si ripete la prova intrapalpebrale 15 - 20 - 25 giorni dopo l'ultima somministrazione di acido fenico. Circa le cause che possono giustificare questa abolita facoltà reattiva dell'organismo morvoso di fronte alla malleina, non sarà fuori posto ricordare che il fenolo spiega un'azione depressiva generale sulle cellule, e che, sotto l'influenza di soluzioni diluitissime, le amebe, i leucociti e le ciglie degli epiteli vibratili arrestano i loro movimenti.

Comunque, a questo proposito, osservazioni in corso potranno illuminarci maggiormente sull'interessante constatazione fatta.

Hengeveld, nel 1853, e Steygerwald, nel 1857, ottengono la cicatrizzazione di lesioni ulcerative di natura morvosa con l'impiego del iodio metallico.

Nel 1883-1885 Levi afferma aver guarita la morva polmonare del cavallo con iniezioni intratracheali di soluzioni iodo-iodurate.

Se Guzzoni, De Lamotte e Trinchera non confermarono i risultati ottenuti dal Levi, Neiman invece, dopo pareri favorevoli già espressi da veterinari francesi e spagnuoli, afferma di aver guarito, con iniezioni intratracheali di soluzione iodo-iodurata cavalli con morva nasale e polmonare accertata mediante l'esame batteriologico, e l'inoculazione sperimentale negli animali recettivi. Neiman aggiunge che sedici dei cavalli guariti, sorvegliati per uno o due anni non ebbero mai a presentare lesioni sospette di morva.

Un piccolo gruppo di cavalli con morva polmonare (N. 3) venne da noi sottoposto ad iniezioni intratracheali di soluzione iodo-iodurata, seguendo esattamente le indicazioni seggerite dal Levi.

Non abbiamo potuto osservare nessun caso di guarigione, anzi durante il trattamento abbiamo ancora assistito, in un soggetto alla comparsa di localizzazioni gravi nasali e cutanee.

Seguendo speciali criteri un piccolo gruppo di cavalli (N. 3) fu sottoposto ad un trattamento misto di acido fenico e soluzione iodo-iodurata; ma ancora i risultati ottenuti furono negativi.

Incoraggiati dai risultati ottenuti dal Sokoloff con le applicazioni mercuriali associate e non all'acido fenico noi abbiamo tentato su un gruppo di cavalli (N. 10) affetti da morva polmonare, iniezioni in serie di arsenicato di mercurio attenendoci ad una formula - per quanto da noi modificata - che nelle mani di Boulin ha risposto con successo nel trattamento di talune malattie infettive. Inutile insistere per dimostrare l'opportunità d'aver tentato i preparati mercuriali ed arsenicali associati, inquantochè oggi siamo troppo bene edotti sull'efficacia di tali preparati nella terapia di talune forme infettive a batteri e a protozoi. Però nelle nostre esperienze se sulle prime si poteva nutrire la speranza di qualche successo, più tardi abbiamo invece dovuto convincerci della inefficacia quasi assoluta dei tentativi da noi fatti.

Alcuni ricercatori, ed ancora recentemente Wiessner e Lange, esperimentarono il valore del salvarsan e del neo salvarsan per il trattamento della morva. Allo scopo di rendere il meno possibile severa la prova i su citati A.A. scielsero per l'esperienza cavalli con morva polmonare iniziale, ma i risultati ottenuti dimostrarono che il salvarsan ed il neo-salvarsan non hanno alcuna influenza poichè le lesioni ebbero l'ordinaria evoluzione anche dopo il trattamento.

Non staremo certo a parlare della chemioterapia e della concezione di Ehrlich intorno al modo di agire dei chemioterapici nelle malattie prodotte da microrganismi e da protozoi, e solo diremo che i sorprendenti risultati otte-

nuti con l'impiego del nuovo antisifilitico di Danysz (derivato dagli arsenobenzoli, il Luargol o 102) da Fournier, Renault e Guénot, da Raspail, da Dalimier, da Levy-Franchel e Montpellier e da Pollio e Rühl ci indussero a tentare l'impiego del Luargol (diossidiaminoarsenobenzolo antimonio-argentico nel quale l'argento si trova fissato allo stato di bromuro e l'antimonio probabilmente allo stato di antimonile) nella terapia della morva, confortati anche dal fatto che tale preparato, a detta di Danysz, non solo è un potente spirillicida e treponemicida, ma è anche particolarmente indicato in tutti quei casi nei quali appare opportuno l'uso del salvarsan e del neosalvarsan. Però noi, malgrado la tecnica più rigorosa nella preparazione delle soluzioni, malgrado l'adozione di una posologia bene studiata, riteniamo non poter concludere affermando l'efficacia di tale preparato nella terapia della morva. (Tentativi fatti su 5 soggetti). Fin da oggi anzi possiamo affermare, ben convinti che la terapia della morva, come di qualunque altra forma morbosa dei nostri animali, deve venir fissata su basi pratiche ed economiche, che la cura col Luargol, anche ammesso dovesse vincere l'infezione morvosa, non potrebbe per il suo costo e per la sua durata, essere indicata per praticità ed economia.

Ed ora veniamo alla cura specifica della morva.

E' principalmente alla tossinoterapia, alla batterioterapia, alla batterio-tossinoterapia, alla siero-tossinoterapia, alla sierobatterioterapia, alla sieroterapia che noi abbiamo rivolta in modo speciale tutta la nostra attenzione.

E per lo svolgimento di queste ricerche, in parte completamente nuove nel campo della terapia della morva, noi abbiamo dovuto e dobbiamo passare attraverso mille pericoli, e bene lo immagina chi considera che nessun bacillo ha voluto, nei laboratori, tante vittime quante ne ha volute il bacillo della morva.

Da mesi e mesi infatti lavoriamo con ceppi morvosi a virulenza esaltatissima, da mesi e mesi lavoriamo su nume-

rosi animali morvosi ed alcuni di questi particolarmente pericolosi.

E' a Nocard, all'Illustre batteriologo francese, che noi dobbiamo la dimostrazione della curabilità della morva occulta del cavallo, con l'impiego della malleina. Dopo numerosissime serie di esperienze, Nocard afferma infatti che le iniezioni di malleina in serie sottintendono la guarigione completa delle lesioni morvose iniziali del polmone e che la guarigione si rende palese, giacchè gli animali « *cessent peu à peu de réagir à la malleine* ». Le constatazioni di Nocard sono confermate dall'Illustre Prof. Vallée, da Helman, Johne, Semmer, Pilavios, Schindelka... dei quali alcuni osservarono non solo la guarigione di forme iniziali di morva polmonare, ma benanche la guarigione delle ulceri morvose.

Mouilleron, seguendo il procedimento di Nocard, riferisce su quattro casi di guarigione di morva controllati poi alla necroscopia. L'esame microscopico delle lesioni, fatte secondo il procedimento di Loeffler, le semine e le inoculazioni alla cavia maschio dei prodotti patologici furono sempre negative.

Ancora Babes afferma aver guarito un caso di morva con la sua *morvina* (malleina ottenuta da culture di morva su brodo di carne e brodo di patate convenientemente diluite, lavate dopo 5-7 settimane attraverso filtro di Witt fino a che il filtrato non dà più sedimento nell'alcool).

Ma contro le affermazioni di Nocard vediamo sorgere esperimentatori che mettono in dubbio l'azione curativa della malleina.

Mac Fadyean, nel 1901, afferma aver trovato alla necroscopia di cavalli non più atti a reagire alla malleina, lesioni polmonari virulenti, e nel 1902 con Hunting, Cope e Mac Call, afferma ancora:

1°) - che un cavallo che ha cessato di reagire alla malleina è incapace di trasmettere la morva;

2°) - che nella pratica, si può ritenere guarito un

cavallo che continui a reagire negativamente a malleinizzazioni fatte ad intervalli di tre mesi.

Bonome, nel 1905, afferma che la « cessazione della reazione alla malleina non deve intendersi come un indizio della sopravvenuta guarigione della morva, bensì può ritenersi dovuta alla comparsa di specifici anticorpi, che legano a sè le proteine del bacillo della morva, le quali costituiscono il principio attivo della malleina e ne impediscono l'azione sui centri della regolazione e della produzione del calore animale ».

« Pericolosi si devono considerare i cavalli sospetti morvosi (morva chiusa) che abbiano cessato di dare la reazione termica alla malleina, poichè non sempre si devono ritenere guariti ».

Ravenna riferisce che Bonome con l'uso della malleina ottenne notevole miglioramento in un giovane affetto da grave infezione morvosa nel quale però non si ebbe l'opportunità di continuare il tentativo terapeutico; De-Haan afferma che le iniezioni di malleina favoriscono la guarigione della morva nella cavia.

Miessner nel 1909 sostiene contro l'opinione di Galtier, Drouin, Aujeszky, Lanfranchi ed altri, che una prima iniezione di malleina nel cavallo morvoso attenua gli effetti di una seconda iniezione. Secondo Miessner si avrebbe torto di ritenere guarito un cavallo quando le malleinizzazioni successive si attenuano fino a diventar negative.

Drouin invece mentre afferma che « la malleine n'entraine pas d'accoutumance » dichiara che ogni cavallo che ha cessato di reagire alla malleina deve considerarsi come guarito.

Leblanc ed Oreste non condividono questa opinione, anzi questo ultimo A. ritiene che la malleina riacutizzi il processo morvoso piuttosto che esplicare azione terapeutica.

In mezzo a questo conflitto di opinioni, noi abbiamo quindi riconosciuta la indispensabilità di riprendere lo studio della importantissima questione.

Anzitutto, per bene procedere in queste nostre esperienze abbiamo ritenuto necessario, indispensabile anzi, prepararci noi stessi una malleina (*Malleina Brian*) a tossicità stabile, costante, giacchè, specie nei primi mesi delle esperienze, noi ricevevamo ora della malleina bruta Pasteur, ora della malleina bruta del Laboratorio Batteriologico Veterinario Militare, ora della malleina bruta della Stazione Sperimentale di Napoli, ora della malleina bruta dell'Istituto Sieroterapico Milanese.

Certo queste malleine, per quanto ottime per la diagnosi della morva, avendo proprietà tossiche non eguali e costanti, non solo non avrebbero potuto permettere un regolare procedere nell'esperienza, ma avrebbero potuto anche trascinarci ad interpretazioni inesatte nella valutazione delle manifestazioni reattive.

Noi ci siamo resi conto a priori che per impiegare con successo la malleino-terapia, bisognava stabilire delle nozioni più esatte sulle dosi da utilizzare, bisognava nel contempo avere qualche dato più preciso sulla sensibilizzazione dei soggetti morvosi trattati con veleni bacillari, bisognava bene stabilire il significato, il meccanismo di una reazione positiva alla malleina, bisognava infine fissare su quali delle manifestazioni reattive si deve fondare il concetto di reazione positiva.

Fin quasi dall'inizio delle esperienze non abbiamo compreso, che l'impiego della malleina nella terapia della morva non potrà mai essere di applicazione corrente, giacchè gli ammalati in trattamento devono essere osservati e seguiti da vicino da persone che abbiano speciale competenza, giacchè la non presa in considerazione anche di una sola reazione può condurre all'insuccesso.

Nell'organismo morvoso la malleina stimola attivamente il processo di immunizzazione, quando però l'organismo è capace di produrre degli anticorpi e quando la tossina iniettata non viene ad aggravare la forma clinica, apportando una nuova causa di intossicazione a quelle che risultano

dall'affezione stessa. Noi riteniamo, *e lo dimostreremo nella relazione finale*, che la tossinoterapia sia da proscriversi in tutte le forme di morva nettamente in evoluzione.

Infatti, nei soggetti morvosi magri e cachettici, con curva termica irregolare la tossinoterapia non è assolutamente consigliabile.

I risultati da noi ottenuti saranno perfettamente dimostrativi a questo riguardo. Forse nei casi ultimi considerati, i sieri antimorvosi potranno utilmente essere impiegati associati alla malleina.

Nei casi adatti al trattamento malleinico bisogna anzitutto adattare la dose di tossina all'organismo. Ma pur non essendo possibile nella pratica nostra adattare la cura ad ogni singolo soggetto, ci siamo comunque chiesti se conveniva meglio un trattamento a dosi di malleina piccolissime, giornalmente, crescenti, salvo lasciare tratto tratto qualche giorno di intervallo; o se meglio conveniva procedere per iniezioni distanziate impiegando le dosi raccomandate da Nocard.

Per rispondere a tale domanda abbiamo sperimentato su due gruppi di N. 10 cavalli morvosi scelti allo scopo e con speciali criteri.

Di più abbiamo trattato un terzo gruppo di cavalli (N. 10) affetti da morva polmonare, con iniezioni ravvicinate di malleina sensibilizzata. Brevi giacchè altrove noi entreremo nei dettagli; la tossino-malleino terapia è atta a guarire le forme di morva occulta. La malleina sensibilizzata finisce per rispondere meno allo scopo forse per le reazioni brusche, rapide che sottintende mentre gli altri due procedimenti di malleinoterapia ci hanno dato risultati nettamente positivi. In N. 5 cavalli con morva in evoluzione, febbricitanti, magri, cachettici, il procedimento, come avevamo previsto, ha invece fallito.

La guarigione fu accertata sulla base di reazioni negative in serie (30-35 giorni di distanza l'una dall'altra) alla malleina e sulla base della determinazione del potere agglu-

tinante del siero. A tale proposito avremo poi occasione di esprimere il nostro modo di vedere sul significato e sull'origine degli anticorpi agglutinanti nei cavalli sottoposti ad iniezioni di malleina.

Ma abbiamo noi ottenuti dei veri casi di guarigione, od abbiamo ottenuto invece dei casi di morva ad uno stato di latenza?

Premesso che a nulla vale, secondo noi, il metodo di Schnurer inteso a differenziare i casi di infezione morvosa in atto dai processi già estinti, noi abbiamo accertato l'avvenuta guarigione dei soggetti ritenuti guariti, prima abbattendone tre ed ottenendo reperti negativi sia all'esame microscopico delle lesioni, sia alla semina e alla inoculazione alle cavie maschio dei prodotti patologici; secondariamente sottoponendo a duro lavoro i cavalli ritenuti guariti.

Infatti, N. 17 cavalli, già dal dicembre scorso sono a disposizione del Battaglione Lagunari e si prestano ottimamente per un servizio duro e faticoso pel traino dei burchi da Revedoli a Brian. Se noi avessimo avuto una apparente guarigione, la morva latente, inattiva sarebbe passata allo stato attivo in seguito allo strapazzo, in seguito alla debilitazione organica.

Si noti poi d'altra parte che la razione alimentare per detti cavalli è tutt'altro che abbondante.

Infine ancora recentemente, dopo tre mesi, i nostri cavalli hanno dato di nuovo reazione negativa alla malleina ed aggiungiamo anzi che alcuni asinelli messi a maggiore garanzia, a convivere con loro nella scuderia di Revedoli, si mantengono tuttora in ottime condizioni di salute.

Ricerche tutt'affatto originali sono invece quelle da noi iniziate e tuttora in via di esperimento, sulla vaccinoterapia della morva polmonare.

E' ben noto che oggi si impiegano vaccini non solo per premunire attivamente l'organismo contro una possibile infezione, non solo per scongiurare una malattia infettiva

già in incubazione (rabbia); ma ancora per stimolare l'organismo a guarire di un'infezione già contratta, stimolando la produzione di opsonine specifiche che favorirebbero la fagocitosi dei microbi infettanti. Non potendo impiegare, nel caso nostro, il bacillo che sosteneva i singoli casi di morva da noi scelti per questa serie di esperienze, noi ci siamo serviti di numerosi ceppi morvosi a virulenza media, allo scopo di avere a disposizione nostra un vaccino polivalente.

Un gruppo di cavalli (N. 3) con morva polmonare fu sottoposto alla vaccinoterapia, impiegando per vaccino bacilli uccisi con sostanze chimiche; un gruppo di cavalli morvosi (N. 8) fu sottoposto alla vaccinoterapia, impiegando un vaccino preparato con bacilli uccisi col calore, ed infine un terzo gruppo di cavalli morvosi (N. 5) fu sottoposto alla malleino-vaccino terapia.

Anche qui nella scelta dei cavalli indicati per tale esperimento abbiamo applicato, e forse con maggior rigore, le norme poc'anzi ricordate pei cavalli morvosi sui quali è particolarmente indicata la malleino-terapia.

Le prime iniezioni di batteri che praticammo ai lati del collo furono in tutti i soggetti accompagnate da una reazione locale enorme, calda, dolente, persistente per 5-8 giorni e accompagnata da sbalzi termici alle volte notevoli. Queste reazioni non ci meravigliarono, giacchè era facile immaginare che *nel vaccino curativo antimorvoso erano proprietà affini e forse più energiche della malleina.* I tentativi di vaccinoterapia e di malleino-vaccinoterapia antimorvosa, per somma prudenza, noi non vogliamo considerarli ancora ultimati. Numerosi tentativi, infinite prove sono ancora necessarie prima di scegliere quella via che dovrà essere ritenuta più tardi come la più indicata. Come già abbiamo detto, la questione è tutt'affatto nuova e non ci fu possibile procedere su nessuna falsariga. Comunque, molto probabilmente noi arriveremo ad affermare che la tossinoterapia e la vaccinoterapia potranno essere utilmente impie-

gate per guarire le forme di morvo polmonare. Certo però, ripetiamo, che i due metodi sono controindicati in tutte le forme di morva in evoluzione.

A questo punto osserviamo che le cure igieniche (igiene del ricovero, riposo, alimentazione abbondante e completa) costituiranno una terapia complementare che indubbiamente favorirà il successo della terapia mista.

D'altra parte dobbiamo tener calcolo che i nostri cavalli, specie nei primi mesi delle esperienze, hanno sopportato un lavoro veramente faticoso.

Il metodo di immunizzazione passiva, basato sull'impiego dei sieri antimorvosi, si oppone alla malleinoterapia alla vaccinoterapia, ed alla malleino-vaccino-terapia. Mentre questi procedimenti di cura erano diretti a stimolare nell'organismo la produzione di principi immunizzanti i sieri antimorvosi, che da tempo sono stati tentati, sarebbero stati teoricamente impiegati a neutralizzare le tossine del *b. mallei.*

Disgraziatamente però la siero-terapia antimorvosa ha urtato contro considerevoli difficoltà di ordine clinico e sperimentale ed i risultati ottenuti furono generalmente negativi.

Il fatto che i bovini sono refrattari alla morva, che essi hanno una immunità naturale contro questa malattia, che non solo non contraggono l'infezione se messi a vivere in ambienti fortemente infetti, ma resistono di fronte ad ogni tentativo di infezione sperimentale, ha indotto taluni a sperimentare l'azione del siero di bue dal punto di vista preventivo e curativo contro la morva. Noi ci occuperemo di quelle esperienze solo intese di fronte alla terapia.

Chenot e Picq riferiscono su casi di guarigione ottenuti con l'impiego di siero di bue su carie infettate con virus morvoso molto virulento; Dupuy e Thiry, Nicolle e Dubos riferiscono sull'efficacia del siero di bue nel trattamento della morva nell'uomo; Bonome afferma che il siero di bue filtrato dopo aver subito un contatto prolungato col bacillo

morvoso, gode di proprietà curative contro la morva di taluni animali specie della cavia.

Aruch e Petrini affermano che il siero di vitelli immunizzati con iniezioni endovenose di bacilli morvosi, non possiede alcuna proprietà immunizzante o curativa per la cavia; Galtier e Nicolas dopo numerose esperienze concludono affermando che il siero di bovini adulti sottoposti ad iniezioni ripetute di virus morvoso non esplica nè potere preventivo, nè potere curativo per il cavallo affetto da morva naturale o sperimentale.

Nocard e Léclainche affermano che il siero normale di bue, come quello di capra è senza azione preventiva e curativa. Essi aggiungono poi che il siero di una vacca avente ricevuto 300 c. c. di malleina bruta, come quello di un'altra vacca avente ricevuto ripetute iniezioni di bacilli morvosi uccisi col calore, si sono dimostrati sprovvisti di ogni azione preventiva e curativa per la morva sperimentale della cavia.

Babes afferma aver ottenuto un siero antimorvoso, ad azione curativa per la cavia, da un asino trattato con dosi crescenti di malleina e bacilli morvosi uccisi.

Sudmersen riferisce aver preparato sieri antimorvosi sul cavallo; ma non dà informazioni ben precise sull'azione preventiva e curativa di tali sieri.

Souline tenta sul cane la preparazione di un siero antimorvoso. Taluni dei cani in trattamento ricevono persino 166 gr. di bacilli morvosi di origine gatto. Il siero ricavato però, anche se impiegato a dosi elevate, non arriva a modificare il decorso della morva nè nel gatto, nè nel cavallo.

Lawrinowitsch dimostrò che il siero di cavalli guariti di morva non esplica alcuna azione curativa sulla morva della cavia e del gatto. Non dimentichiamo infatti a questo proposito che Roeland dimostrò che i cavalli guariti di morva non sono immunizzati e possono benissimo reinfettarsi di morva. Ancora Ravenna dimostrò che il siero di cavie guarite dall'infezione morvosa è sprovvisto di potere curativo per la morva della cavia e del gatto.

Noi abbiamo immunizzato un cavallo con iniezioni ripetute e a dosi crescenti di bacilli morvosi uccisi con sostanze chimiche; un cavallo, un mulo ed un asino con bacilli morvosi uccisi col calore; un cavallo ed un asino con bacilli uccisi col calore e con malleina Brian; un cavallo con colture in brodo di bacilli uccisi col calore e con malleina Brian; un cavallo con colture in brodo di bacilli uccisi con calore e due buoi dei quali uno con iniezioni a dosi ripetute ed elevate di culture di morva in agar virulentissime ed uno con bacilli provenienti da culture in agar uccisi col calore. Diciamo subito, a questo punto, che per noi, contrariamente alle affermazioni di Riegler e Ciuca e di Meloni, l'immunità naturale dei bovini di fronte alla morva è assoluta. I bovini che noi iniettiamo ogni 5 giorni, da circa tre mesi, sopportano benissimo il trattamento immunizzante. La reazione locale e generale, conseguente alle iniezioni di bacilli virulenti, è di media intensità. Talune volte, in corrispondenza al punto di iniezione, vediamo formarsi un ascesso, dal quale facilmente si isola il bacillo della morva.

Ciò detto come parentesi, ritorniamo al siero antimorvoso.

Non è certo colla speranza di ottenere un siero dotato di proprietà preventive o curative, che noi abbiamo iperimmunizzato diversi animali e ciò sia per le esperienze fatte dagli Autori che ci precedettero e per un nostro modo di vedere sull'efficacia dei sieri nelle malattie infettive nodulari.

Noi ci siamo preparati dei sieri antimorvosi:

1°) allo scopo di stabilire se era possibile, con l'impiego di questi associati alla malleina, di intervenire in quelle forme di morva in evoluzione, febbrili, e nelle quali trovammo controindicata la tossino-malleino-terapia

2°) allo scopo di preparare un virus sensibilizzato sì da attenuare quelle reazioni locali e generali che abbiamo visto accompagnare specie le prime iniezioni di virus nei tentativi di vaccino-terapia.

3°) allo scopo di sfruttare le eventuali proprietà del siero iperimmune preparando secondo il procedimento di Besredka, di Vallée e Guinard e adottato nella terapia specifica della tubercolosi dei veleni malleinici condensati e sensibilizzati dal siero antimorvoso.

Ricorderemo brevemente il principio sul quale si basa la preparazione dei vaccini sensibilizzati secondo il metodo di Besredka.

All'aggiunta di sieri specifici a dei corpi microbici, dalla maggioranza dei ricercatori non consigliata dal punto di vista della durata dell'immunità, il Besredka sostituì un metodo inteso ad aggiungere ai microbi solo le sostanze specifiche, solo gli anticorpi, eliminando tutte le materie albuminoidi, tutte le sostanze contenute nei sieri. Per realizzare questa speciale selezione, Besredka, sfruttando i dati stabiliti da Ehrlich e Morgenrott (intesi a dimostrare che ogni cellula e più specialmente ogni microbo messi in contatto col siero immune corrispondente fissano per non più lasciarli, gli anticorpi specifici nel siero contenuti lasciando libera ogni altra sostanza contenuta nel siero) attenua la virulenza, la patogenicità dei microbi, fino a ridurli vaccini ad azione perfettamente attiva e tollerata dagli organismi trattati, mettendoli in contatto ai sieri immuni corrispondenti, per poi raccoglierli allorquando avran fissati gli anticorpi specifici, lavarli, emulsionarli in soluzione fisiologica e costituirne così i vaccini sensibilizzati,

Conosciamo infatti i risultati ottenuti coll'impiego dei vaccini sensibilizzati nella peste, nel colera, nel tifo e nel vaiolo ovino.

Ma per queste esperienze non possiamo ancora riferire risultati definitivi giacchè non è sul reperto di poche osservazioni che noi vogliamo pronunciarci circa l'efficacia dei vaccini sensibilizzati nella terapia della morva.

Siamo infine riusciti ad ottenere, grazie ai nostri sieri antimorvosi, dei veleni malleinici condensati e sensibilizzati che noi da qualche tempo esperimentiamo sui cavalli

affetti da morva polmonare. Anche qui potremo solo fra qualche mese riferire sui risultati ottenuti.

Intanto alcuni dei nostri sieri antimorvosi precipitano fortemente le diverse malleine ed agglutinano i diversi ceppi di *b. mallei* a tassi elevati.

Constatazione interessantissima da noi fatta si è la seguente:

I sieri antimorvosi dimostrano quantità di anticorpi conglutinati inversamente proporzionali al grado di recettività dell'animale siero produttore di fronte alla morva.

I bovini sottoposti ad immunizzazione qualche mese dopo gli equini hanno già un siero ad attività precipitante quasi identica a quella del cavallo. Il mulo, ed infine l'asino, danno sieri a debolissimo potere precipitante. Gli animali trattati con iniezioni di malleina associate ai batteri danno un siero di molto meno capace di precipitare la malleina in confronto ai sieri preparati su animali trattati con soli bacilli.

La malleina una volta di più si dimostra incapace di una azione antigene vera e propria rimanendo libera nell'organismo; probabilmente satura e fissa gli anticorpi che i corpi microbici sono capaci produrre. Ma su queste interessantissime constatazioni noi verremo fra qualche tempo con una speciale memoria originale.

Se noi possiamo per le nostre ricerche, confermando i dati stabiliti da altri ricercatori, affermare che il bacillo è costantemente presente nel sangue delle cavie con localizzazioni morvose, se noi possiamo affermare che la bacillemia morvosa è reperto costante nella morva dell'asino, altrettanto non possiamo affermare per quanto riguarda la morva del cavallo.

Per quanto non sia da mettersi in dubbio il fatto che la circolazione sanguigna ha una certa importanza nella diffusione e disseminazione delle lesioni morbose, per quanto sia perfettamente ammissibile che a momenti dati sotto l'influenza di speciali condizioni i bacilli dai focolai spe-

cifici si versano nel sangue, per quanto sia logico ammettere che talune riacutizzazioni di processo, derivanti da minore capacità dell'organismo a resistere all'invasione del bacillo morvoso, sono legate, molto probabilmente, alla diffusione del bacillo per via sanguigna pure ancora noi riteniamo che la bacillemia morvosa nell'infezione naturale o sperimentale del cavallo sia rarissima, eccezionale.

Nè in cavalli con morva polmonare, nè in cavalli con morva cutanea e nasale, nè in cavalli con morva subacuta o acuta, nè in cavalli in piena reazione malleinica noi abbiamo mai potuto mettere in evidenza il bacillo morvoso nel sangue.

Infine, d'accordo con Hutyra e contrariamente alle ricerche di numerosi altri Autori, noi possiamo ancora affermare che la polverizzazione, l'introduzione dei bacilli morvosi in trachea provoca localizzazioni morvose polmonari alle volte accompagnate da lesioni secondarie della cavità nasale. Nella relazione finale saranno esposti tutti i particolari ed i dettagli nelle numerose esperienze fatte.

*
* *

Un elogio particolare merita il Tenente Dottor P. Cremona, addetto al Laboratorio di ricerche sulla morva, per l'attività e la diligenza spiegate durante lo svolgimento delle delicate ricerche.